

網膜色素変性患者におけるロドプシン遺伝子の検討

—制限酵素による変異部位の検索とDNA多型の頻度—

河野 博之¹⁾, 堀田 喜裕¹⁾, 藤木 慶子¹⁾, 武田美佐子¹⁾, 岩田 文乃¹⁾, 佐久間 仁¹⁾
早川むつ子¹⁾, 金井 淳¹⁾, 塩野 貴²⁾, 玉井 信²⁾, 橋本 知子³⁾, 古山 順一³⁾¹⁾順天堂大学医学部眼科学教室, ²⁾東北大学医学部眼科学教室, ³⁾兵庫医科大学遺伝学教室

要 約

アメリカでは常染色体優性網膜色素変性(ADRP)の約3割にロドプシン遺伝子の変異が報告されているが,我が国での報告は少ない。我々は互いに無関係なADRP 30例のロドプシン遺伝子の,すでに変異が報告されている11か所の塩基部位についてPCR(polymerase chain reaction)法と制限酵素を用いて解析したが,全症例とも変異を認めなかった。また,互いに無関係なADRP 38例,常染色体劣性網膜色素変性(ARRP) 23例のロドプシン遺伝子の269,5145,5321番塩基対のDNA多型の頻度を,正常者67例のそれと比較検討した。結果は,各疾患お

よび正常者との間で多型の頻度に有意差は認められず,A 269 Gの頻度は52%,G 5145 Aは36%,C 5321 Aは5%で,前二者の頻度はアメリカのそれに比して高く,後者は低く,DNA多型の頻度に差があることがわかった。また,前二者の多型は連鎖分析に有用と考えられた。(日眼会誌 99:1151-1157,1995)

キーワード:網膜色素変性,ロドプシン遺伝子,制限酵素,点突然変異,DNA多型

A Study on the Rhodopsin Gene in Japanese Retinitis Pigmentosa
—Screening of Mutation by Restriction Endonucleases
and Frequencies of DNA Polymorphisms—

Hiroyuki Kawano¹⁾, Yoshihiro Hotta¹⁾, Keiko Fujiki¹⁾, Misako Takeda¹⁾,
Fumino Iwata¹⁾, Hitoshi Sakuma¹⁾, Mutsuko Hayakawa¹⁾, Atsushi Kanai¹⁾,
Takashi Shiono²⁾, Makoto Tamai²⁾, Tomoko Hashimoto³⁾ and Jun-ichi Furuyama³⁾

¹⁾Department of Ophthalmology, Juntendo University School of Medicine²⁾Department of Ophthalmology, Tohoku University School of Medicine³⁾Department of Genetics, Hyogo College of Medicine

Abstract

We analyzed 11 sites of the rhodopsin gene using polymerase chain reaction (PCR) amplification and restriction endonucleases in 30 unrelated Japanese patients with autosomal dominant retinitis pigmentosa (ADRP). No point mutation was found in any patient. The frequencies of the single nucleotide (nt) substitution at nt 269, nt 5145 and nt 5321 were examined in three groups, 38 unrelated patients with ADRP, 23 patients with autosomal recessive retinitis pigmentosa (ARRP), and 67 normal controls. There was no significant difference in the

frequencies of substitution among these three groups. The frequencies of A269G, G5145A, and C5321A were 52%, 36%, and 5%, respectively. These values were different from those of the American population. The polymorphisms, A269G and G5145A, are useful as DNA makers for linkage analysis. (J Jpn Ophthalmol Soc 99:1151-1157, 1995)

Key words: Retinitis pigmentosa, Rhodopsin gene, Restriction endonuclease, Point mutation, DNA polymorphism

別刷請求先:113 東京都文京区本郷3-1-3 順天堂大学医学部眼科学教室 河野 博之

(平成6年12月28日受付,平成7年5月23日改訂受理)

Reprint requests to: Hiroyuki Kawano, M.D. Department of Ophthalmology, Juntendo University School of Medicine, 3-1-3 Hongo, Bunkyo-ku Tokyo 113, Japan

(Received December 28, 1994 and accepted in revised form May 23, 1995)

I 緒 言

網膜色素変性(retinitis pigmentosa: 以下, RP)は欧米諸国および我が国における失明の原因疾患として大きなウェイトを占め, その原因の解明, 治療法の確立が望まれている。遺伝的異質性が高く, 遺伝形式は常染色体劣性, 常染色体優性, X染色体性のものがあり, さらに, 一つの遺伝形式の中にも種々の遺伝子の変異によるものがあることが知られている。

1989年にアイルランドのグループが常染色体優性網膜色素変性(autosomal dominant retinitis pigmentosa: 以下, ADRP)の大家系の連鎖分析により, 3番染色体長腕にあるマーカーC17¹⁾とADRPが連鎖していることを報告²⁾した。C17は杆体に含まれ, 光受容に重要な役割を担う膜タンパクであるロドプシン遺伝子の座位に近いことから, ADRPにおけるロドプシン遺伝子が注目された。ロドプシン遺伝子は, すでに1984年Nathansら³⁾によってその全塩基配列が明らかにされ, 1990年Dryjaら⁴⁾⁵⁾によってADRPにおけるロドプシン遺伝子の点突然変異が報告された。現在までにADRP患者において50数種に及ぶロドプシン遺伝子の点突然変異あるいは塩基の欠損が見出されており, アメリカではその変異の約半数がコドン23の変異ではあるものの, ADRPの25~30%にロドプシン遺伝子の変異が見出されている⁶⁾⁷⁾が, 我が国では今のところ報告^{8)~12)}が少ない。我々は現在, 遺伝子異常の検索にはsingle strand conformation polymorphism(以下, SSCP)法を用いており, これは簡単で便利な手法であるが, その検出率は必ずしも高くはないといわれている¹³⁾。そこで, 今回我々は日本人のADRP家系のロドプシン遺伝子について, すでに報告されている変異のうち, 制限酵素で確認できるものについて, その変異の有無を検討した。

一方, 我々はADRPのロドプシン遺伝子の突然変異の検索を行っていく過程で, Sungら¹⁴⁾が報告したDNA多型のうち, 269番と5145番塩基の多型の頻度が高く, アメリカで報告されている頻度よりもかなり高いことを見出した。本稿では, これらのDNA多型の頻度の高いことが我が国のADRPに特有にみられ, 疾患と何らかの関連がある現象か, あるいは日本人全体が高頻度を持つ多型で人種差によるものかを知る目的で, ADRP患者の他, 常染色体劣性網膜色素変性(autosomal recessive retinitis pigmentosa: 以下, ARRP)患者, および日本人正常者について比較検討した。また, アメリカに多い5321番塩基の多型¹⁴⁾についても同様の検討を行った。さらに, G2557A, G4142Aの多型もinfrequentと記されているが, 本研究におけるARRP患者23例について調べたところ, 我々の症例はすべてC2557, G4142であったことから, 今回は対象から除外した(Sungら¹⁴⁾は2557番塩基の野生型をGとしているが, 我々の検討ではNathans³⁾と同じくC2557であった)。

II 対象および方法

1. 変異の有無の検索

互いに無関係な日本人ADRP患者30例(1家系1例)を解析した。ADRPですでに報告されているロドプシン遺伝子異常のうち, 制限酵素で確認可能な部位を選択した(表1)。各変異部位を含むDNA断片を増幅する目的でプライマーを合成し, polymerase chain reaction(以下, PCR)法でDNA断片を増幅して, 表1に示すそれぞれの制限酵素で消化後, 2%アガロースゲル上に流してエチジウムブロマイド染色により観察した。今回使用した制限酵素では変異が存在すると認識部位はすべて消失し, 野生型のみ消化される。また, 使用する制限酵素の活性の有無については, 適当なDNA ladderとすでに消化

表1 変異の有無を検討したロドプシン遺伝子の塩基配列と制限酵素

| エクソン | 用いたプライマー (上段: Sense 下段: Anti-sense) | コドン | 変異の種類* | 変異が確認できる 制限酵素 | 制限酵素による 認識部位 |
|------|--|-----|-------------------------------------|------------------|-----------------|
| 1 | 5'-AGCTCAGGCCTTCGCAGCAT-3' | 89 | GGT → GAT ¹⁴⁾²⁷⁾²⁸⁾ | <i>Eco</i> T14 I | 消失 |
| | 5'-GAGGGCTTTGGATAACATTG-3' | 106 | GGG → TGG ¹⁴⁾²⁸⁾ | <i>Apa</i> I | 消失 |
| | | 110 | TGC → TAC ⁶⁾ | <i>Fok</i> I | 消失 |
| 3 | 5'-GGCTGTTCCCAAGTCCCTCAC-3' | 178 | TAC → TGC ¹⁴⁾²⁹⁾ | <i>Afa</i> I | 消失 |
| | 5'-CAGGAGCCGCAGATGCATGCT-3' | 181 | GAG → AAG ²⁷⁾ | <i>Ava</i> I | 消失 |
| | | 182 | GGC → AGC ³⁰⁾ | <i>Hae</i> III | 消失 |
| | | 190 | GAC → AAC ²⁷⁾³¹⁾ | <i>Taq</i> I | 消失 |
| 4 | 5'-GACCCGGGTCCCGTGTCCTGC-3' | 267 | CCC → CTC ³⁰⁾ | <i>Ban</i> I | 消失 |
| | 5'-GGCCCTCCCACCCGAGTAGG-3' | | | | |
| 5 | 5'-CGTGAGGGGCAGAAGCAGGC-3' | 344 | CAG → TAG ¹⁴⁾²⁸⁾³²⁾ | <i>Mva</i> I | 消失 |
| | 5'-GTGACTTCGTTTCATTCTGCA-3' | 345 | GTG → ATG ²⁷⁾³³⁾ | <i>Mva</i> I | 消失 |
| | | 347 | CCG → TCG ²⁷⁾³⁴⁾ | <i>Msp</i> I | 消失 |
| | | | → CTG ^{9)14)27)28)34)~36)} | <i>Msp</i> I | 消失 |
| | | | → CGG ³⁷⁾ | <i>Msp</i> I | 消失 |

*: 本文で引用されない表1での引用文献は, 末尾(27)~37))にまとめて示した。

が確認されている DNA 断片を対照に用いて毎回確認した。

2. DNA 多型の頻度の検索

互いに無関係な ADRP 38 例, ARRP 23 例, 正常日本人 67 例(それぞれ 1 家系 1 例)について検討した。親子 2 世代で発症した者は ADRP, 同胞例あるいは単発でも両親が血族結婚である者は ARRP と考えた。ロドプシン遺伝子の①エクソン 1 の 5'側非コード領域の 269 番塩基の A から G への塩基置換, ②第 4 イントロン中の 5145 番塩基の G から A への塩基置換, ③エクソン 5 の 3'側非コード領域の 5321 番塩基の C から A への塩基置換, の 3 つの DNA 多型について, 各変異部位を含む DNA 断片を増幅する目的でプライマーを合成し, PCR 法で DNA 断片を増幅した。①については, 74~403 番塩基(330 塩基対)の DNA 断片の増幅に, 5'-TAGGCCCTCAGTTTCTGCAG-3' と 5'-AC-TGCCATGGCTCAGCCAGG-3' のプライマーを, ②, ③については, 5061~5389 番塩基(329 塩基対)の DNA 断片の増幅に, 5'-CGTGAGGGGCAGAAGCAGGC-3' と 5'-GTGACTTCGTTTCATTCTGCA-3' のプライマーを使用した。塩基置換の有無の確認は, ①の検索には

*Sac*II, ②の検索には *Hinf*I, ③の検索には *Fok*I でそれぞれ消化後, 2% アガロースゲル上に流してエチジウムブロマイド染色により観察した。①では, A から G への塩基置換によって *Sac*II に認識されるので, 野生型はそのまま残り塩基置換があれば消化される。②では, G から A への塩基置換が存在すると *Hinf*I の認識を失うので, 野生型では消化され塩基置換があれば消化されない。すなわち, 野生型では 145, 塩基置換があれば 230 塩基対のバンドが判定の基準になる。③では C から A への塩基置換が存在すると *Fok*I の認識を失うため, 野生型では消化されるが塩基置換あれば消化されない。この場合, 野生型では 248 塩基対のバンドが生じるのに対し, 塩基置換があると 278 塩基対のバンドが残り, その間隔はわずかに 30 塩基対であるが, 電気泳動パターンでの判別は十分可能であった。

III 結果

1. 変異の有無の検索

今回の 11 か所のコドンの変異の有無の検索では, 全症例に変異を認めなかった(図示せず)。

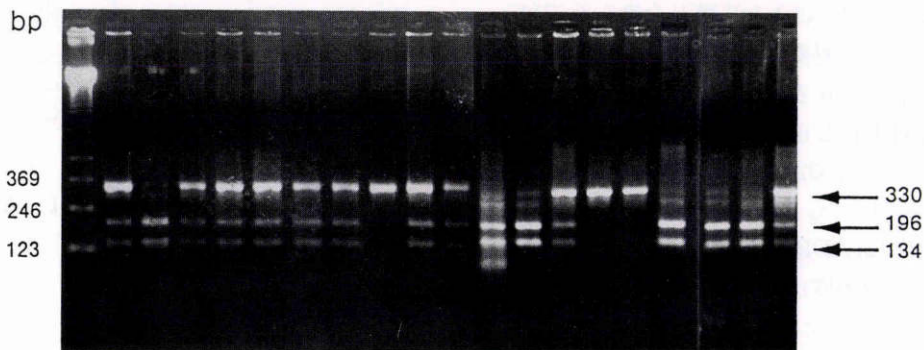


図1 *Sac*II 消化による A 269 → G 多型の泳動パターン。

A から G への塩基置換によって *Sac*II の認識部位を生ずるため, 野生型(330 塩基対)はそのまま残り, 塩基置換があれば消化され, 196 と 134 塩基対のバンドとなる。

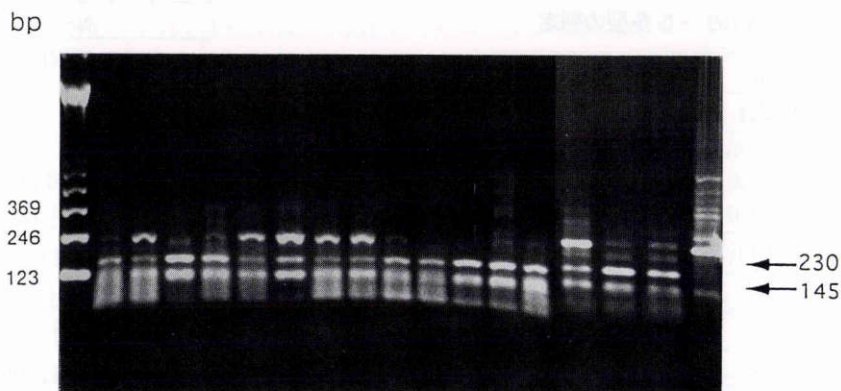


図2 *Hinf*I 消化による G 5145 → A 多型の泳動パターン。

G から A への塩基置換が存在すると *Hinf*I の認識部位を失い, 野生型では 145, 塩基置換があれば 230 塩基対のバンドが判定の基準となる。

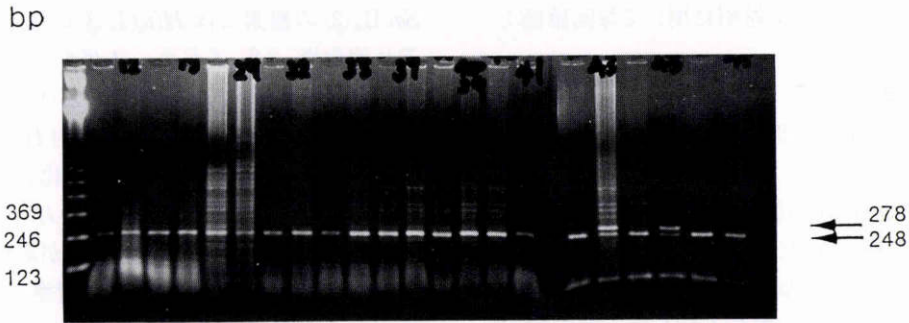


図3 FokI消化によるC 5321 → A 多型の泳動パターン。

C から A への塩基置換が存在すると FokI の認識部位を失い、野生型では 248 塩基対が生じるのに対し塩基置換があると 278 塩基対のバンドが残る。また、野生型と変異型との間隔は 30 塩基対であるが、電気泳動パターンでの判別は十分可能であった。

2. DNA 多型の頻度の検索

SacII, HinfI, FokI それぞれの消化による泳動パターンの一部を図 1～3 に示した。表 2～4 に検索結果をまとめて示した。269 番塩基の A から G への塩基置換の頻度は、ADRP 46.2%, ARRП 58.7%, 正常者 53.0% で、ADRP と ARRП、正常者間での多型の頻度差はいずれも統計学的に有意差を認めなかった。なお、DNA 多型の検索の過程で行った direct sequence の結果得られたこの部位での多型は、制限酵素による結果と合致した。5145 番塩基の G から A の塩基置換の頻度は、ADRP 29.7%, ARRП 36.4%, 正常者 40.2% で、ここでも ADRP・ARRП間、ADRP、ARRП と正常者間にはいずれも有意差は認められなかった。5321 番塩基対では、ADRP、ARRП、正常者のいずれにも A のホモはなく、C から A への塩基置換の頻度は、ADRP 2.9%, ARRП 4.6%, 正常者 6.6% で、これらの頻度は互いに統計学的な有意差は認められなかった。以上、上記 3 種の DNA 多型の頻度は、ADRP、ARRП間、正常者間で統計学的に有意差は認めず、特定の群に塩基置換が偏っているとはいえなかった。また、各群における野生型ホモ、野生型/変異型ヘテ

表2 SacII消化によるA 269 → G多型の判定

| | ADRP | ARRП | 正常 | 計 |
|------|-----------|-----------|-----------|-------|
| | 観察値(%) | 観察値 | 観察値 | |
| A/A | 10 (25.6) | 3 (13.0) | 11 (16.4) | 24 |
| A/G | 22 (56.4) | 13 (56.6) | 41 (61.2) | 76 |
| G/G | 7 (18.0) | 7 (30.4) | 15 (22.4) | 29 |
| 計 | 39(100.0) | 23(100.0) | 67(100.0) | 129 |
| Gの頻度 | 46.2% | 58.7% | 53.0% | 51.9% |

| | |
|----|----|
| NS | NS |
| NS | |

米国の ADRP および正常者集団：14% (Sung C-H et al. 1991)

ADRP：常染色体優性網膜色素変性
ARRП：常染色体劣性網膜色素変性

表3 HinfI消化によるG 5145 → A多型の判定

| | ADRP | ARRП | 正常 | 計 |
|------|-----------|-----------|-----------|-------|
| | 観察値(%) | 観察値 | 観察値 | |
| G/G | 18 (48.7) | 7 (31.8) | 24 (36.4) | 49 |
| G/A | 16 (43.2) | 14 (63.6) | 31 (47.0) | 61 |
| A/A | 3 (8.1) | 1 (4.6) | 11 (16.7) | 15 |
| 計 | 37(100.0) | 22(100.0) | 66(100.0) | 125 |
| Aの頻度 | 29.7% | 36.4% | 40.2% | 36.4% |

| | |
|----|----|
| NS | NS |
| NS | |

米国の ADRP および正常者集団：infrequent (Sung C-H et al. 1991)

表4 FokI消化によるC 5321 → A多型の判定

| | ADRP | ARRП | 正常 | 計 |
|------|-----------|-----------|-----------|------|
| | 観察値(%) | 観察値 | 観察値 | |
| C/C | 33 (94.3) | 20 (90.9) | 53 (86.9) | 106 |
| G/A | 2 (5.7) | 2 (9.1) | 8 (13.1) | 12 |
| A/A | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 |
| 計 | 35(100.0) | 22(100.0) | 61(100.0) | 118 |
| Aの頻度 | 2.9% | 4.6% | 6.6% | 5.1% |

| | |
|----|----|
| NS | NS |
| NS | |

米国の ADRP および正常者集団：13% (Sung C-H et al. 1991)

ロ、変異型ホモの各遺伝子型は、Hardy-Weinberg の法則からのずれを認めず、特定の遺伝子型への偏りも認められなかった。したがって、これらを合わせた日本人全体としての多型率は、A 269 G は 52%, G 5145 A は 36%, C 5321 A は 5% となり、アメリカでの頻度¹⁴⁾の 14%, infrequent, 13% と比較した結果、269 と 5145 番塩基対での頻度はアメリカのそれより高く、5321 番塩基対では逆に低い変異率を示した。

IV 考 按

Dryja⁶⁾, Berson⁷⁾によれば, アメリカのADRPの25~30%にロドプシン遺伝子の変異がみられ, この異常の有無は疾患と相関するという. 本邦においては今のところ, Pro-347-Leu(CCG → CTG)^{8)~10)}, Thr-17-Met(ACG → ATG)⁹⁾¹¹⁾, Glu-181-Lys(GAG → AAG)¹²⁾の3家系の報告があるが, アメリカで多いとされるコドン23の変異については多くの例で検討されているが, 変異は見出されていない. SSCP法は, その簡便さと, 増幅されたDNA断片の全体について変異を検出できることから広く用いられているが, 検出率は必ずしも高くない¹³⁾. 一方, 制限酵素を用いた方法は遺伝子のごく一部しか検出できないが, その検出率が非常に高いという利点がある. 今回欧米で報告のあった部位について検討したが, 変異は1つも見つからなかったことから, やはり日本人集団におけるRPのロドプシン遺伝子異常はアメリカと比べるとそれほど高くないことが考えられる.

ロドプシン遺伝子のDNA多型の頻度について Sungら¹⁴⁾のアメリカでの報告がある. それによると, 269番塩基対での多型の頻度はアメリカでのADRPおよび正常者では14%であることから, 日本人の52%は高頻度である. 5145番塩基対でのアメリカ人ADRPおよび正常者の多型の頻度は明確な数字では示されていないが infrequent であると報告されているので, 日本人の36%は高頻度であるといえる. 5321番塩基対での多型はアメリカでのADRPおよび正常者では13%であり, 日本人では逆に5%と低く, これらの多型の頻度はアメリカ人のそれと大きく異なることがわかった. また, 日本人RPに269, 5145番塩基対での多型が多いことから, 患者がある特定の小集団から発生し, それが拡大した可能性を期待したが, ADRPの269番塩基対での多型は高頻度ではあったものの, 正常者集団との統計学的な有意差は認められず, これは患者特有のものではなく, 日本人全体が高頻度を持つものであることがわかった. これら3種のDNA多型の頻度がアメリカのそれと大きく異なっていることは, 人種差による相異, あるいはかなり早い時期の日本民族発祥の折に生じた創始者効果によるものと思われるが, 今のところ近隣諸国, 他民族の調査資料がなく, これ以上の推定はできない.

ここ数年におけるRPの遺伝子異常についての理解は急速に高まった. そして, 遺伝子の異常と疾患との関連はさらに明らかにされていくと思われるが, 人種ごと, あるいは地域ごと, また, 極端に言えば家系ごとに遺伝子異常が異なることも考えられ, その解明の作業は膨大である. すでに一部のADRPでの6番染色体上のperipherin/RDS遺伝子の変異が報告^{15)~20)}され, また, 11番染色体にあるROM-1遺伝子の異常が一部のADRPにみられるという²⁰⁾²¹⁾. この他, トランスデュシン(transdu-

cin)²²⁾, ホスホジエステラーゼ(phosphodiesterase)^{23)~25)}, retinol binding protein(RBP)²²⁾, S抗原²²⁾, MEKA²⁶⁾などの光刺激伝達に関わる種々のタンパク質がRPの原因の候補遺伝子として注目されている. しかし, 現在のところRPにおいてはロドプシン遺伝子異常の報告が最も多く, 個々の家系についてまず検討されるべき遺伝子であることに異論はないだろう. こうしたRPのロドプシン遺伝子の検索にあたり, 今回知り得た2つの高頻度の多型の知見は以下の2つの点で重要と考える. 1つは, SSCP法あるいはdenaturing gradient gel electrophoresis(DGGE)法でロドプシン遺伝子の変異を検索する場合, プライマーの設計や結果の解析の際に, これらの多型が十分に考慮されるべき点である. もう1つは, あるPRの患者あるいは家系について, 疾患がロドプシン遺伝子と連鎖しているかを調べるときに有用なマーカーとなり得る点である. 連鎖分析には大家系の解析が必要となり, 本邦ではなかなか困難と考えられるが, 今後RP患者を家系ごと, あるいは個々の患者ごとにロドプシン遺伝子の解析を行っていく際には, 今回の検討によるRPにおけるロドプシン遺伝子の269, 5145番塩基対のDNA多型が連鎖分析に有用と考える.

本論文要旨の一部は, 第97回日本眼科学会総会で発表した.

本研究は, 文部省科学研究費(課題番号C05807166)と, 厚生省特定疾患網脈絡膜萎縮症調査研究班(班長: 本田孔士教授)の研究費の援助を受けた.

文 献

- 1) Donis-Keller H, Green P, Helms C, Cartinhour S, Weiffenbach B, Stephens K, et al: A genetic linkage map of the human genome. *Cell* 51: 319-337, 1987.
- 2) McWilliam P, Farrar GJ, Kenna P, Bradley DG, Humphries MM, Sharp EM, et al: Autosomal dominant retinitis pigmentosa (ADRP): Localization of an ADRP gene to long arm of chromosome 3. *Genomics* 5: 619-622, 1989.
- 3) Nathans J, Hogness DS: Isolation and nucleotide sequence of the gene encoding human rhodopsin. *Proc Natl Acad Sci USA* 81: 4851-4855, 1984.
- 4) Dryja TD, McGee TL, Reichel E, Hahn LB, Cowley GS, Yandell DW, et al: A point mutation of the rhodopsin gene in one form of retinitis pigmentosa. *Nature* 343: 364-366, 1990.
- 5) Dryja TD, McGee TL, Hahn LB, Cowley GS, Olsson JE, Reichel E, et al: Mutations within the rhodopsin gene in patients with autosomal dominant retinitis pigmentosa. *N Engl J Med* 323: 1302-1307, 1990.
- 6) Dryja TD: Rhodopsin and autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Eye* 6: 1-10, 1992.
- 7) Berson EL: Retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 24: 1659-1676, 1993.

- 8) 堀田喜裕, 塩野 貴, 早川むつ子, 橋本敏浩, 金井淳, 中島 章, 他: 日本人の常染色体優性網膜色素変性患者のロドプシン遺伝子の分子生物学的検討. 日眼会誌 96: 237—242, 1992.
- 9) Fujiki K, Hotta Y, Hayakawa M, Sakuma H, Shiono T, Noro M, et al: Point mutation of rhodopsin gene found in Japanese families with autosomal dominant retinitis pigmentosa (ADRP). Jpn J Human Genet 37: 125—132, 1992.
- 10) Shiono T, Hotta Y, Noro M, Sakuma T, Tamai M, Hayakawa M, et al: Clinical features of Japanese family with autosomal dominant retinitis pigmentosa caused by point mutation in codon 347 of rhodopsin gene. Jpn J Ophthalmol 36: 69—75, 1992.
- 11) Hayakawa M, Hotta Y, Imai Y, Fujiki K, Nakamura A, Yanashima K, et al: Clinical features of autosomal dominant retinitis pigmentosa with rhodopsin gene codon 17 mutation and retinal neovascularization in a Japanese patient. Am J Ophthalmol 115: 168—173, 1993.
- 12) Saga M, Mashima Y, Akeo K, Oguchi Y, Kudou J, Shimizu N: Autosomal dominant retinitis pigmentosa. Ophthalmic Genet 15: 61—67, 1994.
- 13) 中沢 満: 網膜色素変性症の分子生物学的研究. 日眼会誌 97: 1394—1405, 1993.
- 14) Sung CH, Davenport CM, Hennessey JC, Maumenee IH, Jacobson SG, Heckenlively JR, et al: Rhodopsin mutations in autosomal dominant retinitis pigmentosa. Proc Natl Acad Sci USA 88: 6481—6485, 1991.
- 15) Farrar GJ, Kenna P, Jordan SA, Kumar-Singh R, Humphries MM, Sharp EM, et al: A three-base-pair deletion in the peripherin-*RDS* gene in one form of retinitis pigmentosa. Nature 354: 478—480, 1991.
- 16) Kajiwarra K, Hahn LB, Mukai S, Travis GH, Berson EL, Dryja TP: Mutations in the human retinal degeneration slow gene in autosomal dominant retinitis pigmentosa. Nature 354: 480—483, 1991.
- 17) Wells J, Wroblewski J, Keen J, Inglehearn C, Jubb C, Eckstein A, et al: Mutation in the human retinal degeneration slow (*RDS*) gene can cause either retinitis pigmentosa or macular dystrophy. Nature Genet 3: 213—218, 1993.
- 18) Saga M, Mashima Y, Akeo K, Oguchi Y, Kudoh J, Shimizu N: A novel Cys-214-Ser mutation in the peripherin/*RDS* gene in a Japanese family with autosomal dominant retinitis pigmentosa. Hum Genet 92: 519—521, 1993.
- 19) Kikawa E, Nakazawa M, Chiba Y, Shiono T, Tamai M: A novel mutation (Asn244Lys) in the peripherin/*RDS* gene causing autosomal dominant retinitis pigmentosa associated with bull's-eye maculopathy detected by nonradioisotopic SSCP. Genomics 20: 137—139, 1994.
- 20) Kajiwarra K, Berson EL, Dryja TP: Digenic retinitis pigmentosa due to mutation at the unlinked peripherin/*RDS* and *Rom1* loci. Science 264: 1604—1608, 1994.
- 21) Davis K: Mapping the way forward. Nature 353: 798—799, 1991.
- 22) Ringens PJ, Fang M, Shinohara T, Bridges CD, Lerea CL, Berson EL, et al: Analysis of genes coding for S-antigen, interstitial retinol binding protein, and the alpha-subunit of cone transducin in patients with retinitis pigmentosa. Invest Ophthalmol Vis Sci 31: 1421—1426, 1990.
- 23) Cotran PR, Bruns GAP, Berson EL, Dryja TP: Genetic analysis of patients with retinitis pigmentosa using a cloned cDNA probe for the human gamma subunit of cyclic GMP phosphodiesterase. Exp Eye Res 53: 557—564, 1991.
- 24) Bateman JB, Klisak I, Kojis T, Mohandas T, Sparkes RS, Li T, et al: Assignment of the β -subunit of rod photoreceptor cGMP phosphodiesterase gene PDEB (homolog of the mouse *rd* gene) to human chromosome 4q16. Genomics 12: 601—603, 1992.
- 25) McLaughlin ME, Sandberg MA, Berson EL, Dryja TP: Recessive mutation in the gene encoding the β -subunit of rod phosphodiesterase in patients with retinitis pigmentosa. Nature Genet 4: 130—133, 1993.
- 26) Watanabe Y, Kawasaki K, Miki N, Kuo CH: Isolation and analysis of the human MEKA gene encoding a retina-specific protein. Biochem Biophys Res Commun 170: 951—956, 1990.
- 27) Dryja TP, Hahn LB, Cowley GS, McGee TL, Berson EL: Mutation spectrum of the rhodopsin gene among patients with autosomal dominant retinitis pigmentosa. Proc Natl Acad Sci USA 88: 9370—9374, 1991.
- 28) Sung CH, Scheider BG, Agarwal N, Papermaster DS, Nathans J: Functional heterogeneity of mutant rhodopsin responsible for autosomal dominant retinitis pigmentosa. Proc Natl Acad Sci USA 88: 8840—8844, 1991.
- 29) Farrar GJ, Kenna P, Redmond R, Shiels D, McWilliam P, Humphries MM, et al: Autosomal dominant retinitis pigmentosa: A mutation in codon 178 of the rhodopsin gene in two families of Celtic origin. Genomics 11: 1170—1171, 1991.
- 30) Sheffield VC, Fishman GA, Beck JS, Kimura AE, Stone EM: Identification of novel rhodopsin mutations associated with retinitis pigmentosa by GC-clamped denaturing gradient gel electrophoresis. Am J Hum Genet 49: 699—706, 1991.
- 31) Keen TJ, Inglehearn CF, Lester DH, Bashir R, Jay M, Bird AC, et al: Autosomal dominant retinitis pigmentosa: Four new mutations in rhodopsin, one of them in the retinal attachment site. Genomics 11: 199—205, 1991.
- 32) Jacobson SG, Kemp CM, Sung CH, Nathans J:

- Retinal function and rhodopsin levels in autosomal dominant retinitis pigmentosa with rhodopsin mutation. *Am J Ophthalmol* 112: 256—271, 1991.
- 33) **Berson EL, Sandberg MA, Dryja TP**: Autosomal dominant retinitis pigmentosa with rhodopsin, valine-345-methionine. *Trans Am Ophthalmol Soc* 89: 117—130, 1991.
- 34) **Dryja TP, McGee TL, Hahn LB, Cowley GS, Olsson JE, Reichel E**, et al: Mutation within the rhodopsin gene in patients with autosomal dominant retinitis pigmentosa. *N Eng J Med* 323: 1302—1307, 1990.
- 35) **Bhattacharya S, Lester D, Keen TJ, Bashir R, Lauffart B, Inglehearn CF**, et al: Retinitis pigmentosa and mutations in rhodopsin. *Lancet* 337: 185, 1991.
- 36) **Berson EL, Rosner B, Sandberg MA, Weigel-DiFranco C, Dryja TP**: Ocular findings in patients with autosomal dominant retinitis pigmentosa and rhodopsin, proline-347-leucine. *Am J Ophthalmol* 111: 614—623, 1991.
- 37) **Gal A, Artlich A, Ludwig M, Niemeyer G, Olek K, Schwinger E**, et al: Pro347Arg mutation of the rhodopsin gene in autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Genomics* 11: 468—470, 1991.